Cryptogamie, Mycol. 1988, 9 (3) : 239-249

POLARITÉ DE CROISSANCE-DIFFÉRENCIATION DES HYPHES FONGIQUES (MODÈLES)

par G. TURIAN*

RÉSUMÉ – La polarité (mono-) d'émergence du tube germinatif conidien chez *Neurospora crassa* paraît dépendre d'une dépolarisation localisée électrique du plasmalemme consécutive au positionnement de mitochondries à ce niveau. Cette polarité d'émergence peut être perturbée par une dépolarisation généralisée de la membrane plasmique imposée par un protonophore tel que le 2,4-dinitrophénol. Les apex des hyphes en croissance monopolaire montrent [redacted] «tache» apicale réductrice et acide centrée sur l'agrégat micro-vésiculaire du «Spitzenkörper». Les apex des hyphes tortueux d'un mutant colonial (col-3) sont dépourvus de cette zone acide, présente seulement à l'origine de ramifications. Le cytoplasme apical est enrichi en protéines contractiles, actine et myosine, pouvant contribuer, avec une force électrochimique, à la propulsion polarisée des vésicules de paroi amorcée le long de microtubules.

SUMMARY – Polarity (mono-) of germ tube outgrowth from a conidium in *Neurospora crassa* appears to depend upon localized depolarization of the plasmalemma following mitochondrial positioning at that level. Outgrowth polarity can be disturbed by a generalized depolarization of the plasmalemma with a protonophore such as 2,4-dinitrophenol. Monopolarly growing hyphae show a reductive and acidic apical «spot» spatially centered on the microvesicular aggregate of the «Spitzenkörper». Apices of contorted hyphae of a colonial mutant (col-3) are devoid of that acidic zone which is only present at the inception of its branchings. The apical cytoplasm is enriched in the contractile proteins, actin and myosin, which may contribute, with the electrochemical force, to the polarized driving of wall vesicles initiated along microtubules.

MOTS CLÉS : hyphes, croissance, polarité, *Neurospora*.

Les processus de croissance et différenciation des hyphes fongiques sont étroitement intriqués et cela dès l'émergence de ces derniers comme tubes germinatifs à partir de spores achevant leur stade dit de gonflement («swelling stage», GOTTLIEB, 1978). Ce stade de type isodiamétrique peut être bloqué par des inhibiteurs spécifiques de la synthèse des protéines, en particulier la cycloheximide (KATZ & ROSENBERG, 1971); il peut donc être considéré comme résultant d'une croissance pratiquement pure («isometrical growth»,

* Laboratoire de Microbiologie générale, Département de Biologie végétale, Université de Genève, CH-1211 Genève 4, Suisse.

BARTNICKI-GARCIA, 1973), plutôt que d'une simple inhibition aqueuse. Ce gonflement par croissance isodiamétrique de la spore fongique est d'ailleurs plus ou moins accentué selon les espèces : accroissement du diamètre sporal de 2-3 fois chez *Aspergillus niger*, etc., pratiquement nul chez *Botrytis cinerea*, etc. (cf. HAWKER, 1966). Le stade de croissance isodiamétrique est plutôt modéré chez les conidies de *Neurospora crassa* (environ 2 fois le diamètre sporal).

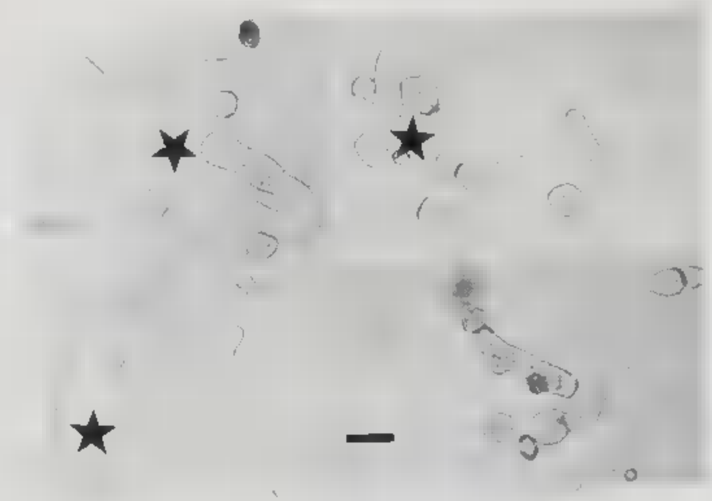


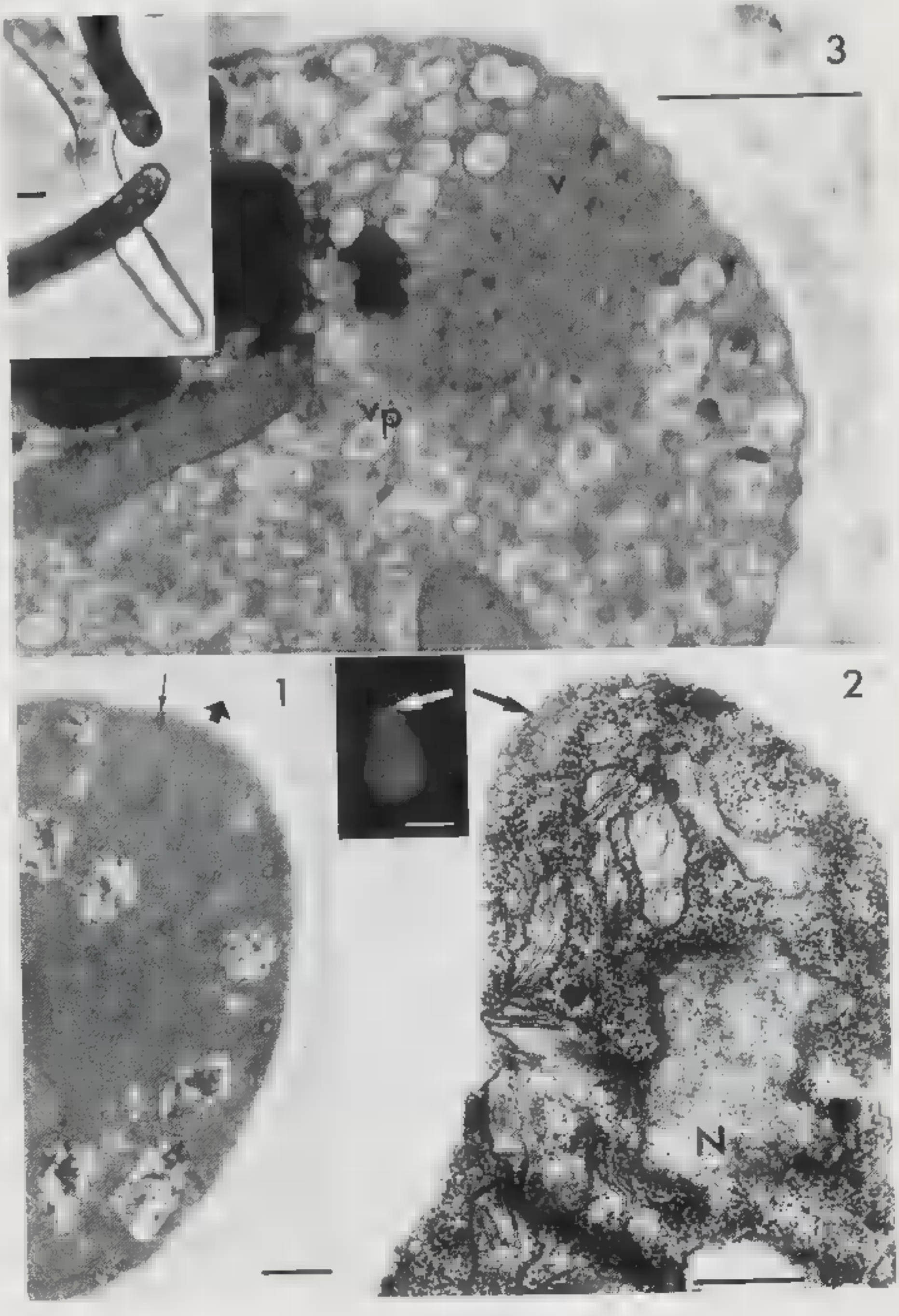
Figure 1 — Macroconidies de *Neurospora crassa* germées après incubation de 6 h à 25°C en présence de 10^{-4} M de 2,4-dinitrophénol en milieu synthétique liquide de Vogel. Noter l'élargissement des tubes germinatifs (*) sur les conidies exagérément gonflées. M. O. «in vivo» (Échelle : 10 μm).

Figure 1 — Macroconidia of *Neurospora crassa* germinated after 6 h of incubation at 25°C in liquid Vogel's synthetic medium containing 10^{-4} M of 2,4-dinitrophenol. Notice the widening of the germ tubes (*) on overswollen conidia. M.O. «in vivo» (Bar : 10 μm).

Le stade de croissance isodiamétrique peut être prolongé lors de l'incubation de conidies de *Neurospora crassa* à 46°C, induisant la synthèse de «heat-shock proteins» dont certaines sont associées à la voie oxydative alternative (cyano-insensible, MICHEA-HAMZEHPOUR & TURIAN, 1984). Un «gonflement» isodiamétrique peut être aussi produit en présence de doses subléthales (10^{-4} M) du découplant classique, le 2,4-dinitrophénol ou 2,4-DNP. Là aussi, une énergie de source alternative à celle de la respiration, présumément glycolytique, pourrait suppléer pour les synthèses protéiques (SANDERS & SLAYMAN, 1982). Le 2,4-DNP est connu pour son effet dépolarisant sur les membranes plasmiques (PALL, 1977) et, de ce fait, tend à généraliser la dépolarisation plasmalemmique normalement localisée au seul site d'émergence du tube germinatif (TURIAN &

al., 1985b). La conidie «gonflée» en présence de doses subléthales de 2,4-DNP pourrait être considérée comme étant ainsi devenue tout entière un énorme tube germinatif; cela expliquerait la modulation de cet effet par des doses intermédiaires de 2,4-DNP, à savoir un élargissement plus ou moins notoire de la base d'émergence du tube germinatif (Fig. 1). Aux faibles doses, de 10^{-5} - 10^{-6} M de 2,4-DNP ou d'autres découplants tels que le dicoumarol à 10^{-6} M ou le CCCP à 10^{-7} M, la phase de croissance sphérique est par contre raccourcie au profit d'une émergence du tube germinatif prématurée (2 h à 25°C) par rapport au témoin (moyenne de 2,5 h à 25°C), ce que nous avons attribué à une activation de l'ATPase mitochondrienne (TURIAN & MICHEA-HAMZEHPOUR, 1983) produisant un efflux de protons au-delà de la membrane interne des mitochondries dans le cytosol proximal ainsi acidifié. En nous fondant sur diverses observations électro-microscopiques d'une proximité aléatoire ou dirigée par microtubules d'un lot de mitochondries au niveau d'une zone plasmalemmique de la conidie sphériquement gonflée (Pl. I-1), nous avons pu suggérer une possibilité de dépolarisation locale de la membrane plasmique, processus alors électif du site d'émergence du tube (TURIAN & GEISSLER, 1984). A ce propos, il est utile de rappeler que toutes les spores fongiques ne nécessitent pas d'élection d'un pôle germinatif par positionnement mitochondrien aléatoire ou génétiquement orienté par microtubules interposés. La plupart des Ascomycètes et Basidiomycètes présentent, en effet, un pore *pré*existant dans la paroi de leurs spores d'origine sexuée. Ce terme de pore germinatif est d'ailleurs approximatif car il n'y a pas d'ouverture complète à son niveau mais plutôt une modification chimique locale de matériaux de la paroi (MARCHANT, 1979). En fait, il y a là une différenciation secondaire de la paroi comme dans les basidiospores de Coprin présentant un capuchon sporal repoussé lorsque le tube germinatif émerge. Cependant, comme il y a aussi attraction vésiculaire à ce point d'émergence au travers de la matière porale, le même mécanisme décrit plus loin devrait aussi y présider aux mouvements des vésicules de parois au travers de la zone d'exclusion des mitochondries.

Le site d'émergence peut être considéré comme une zone de *re*différenciation par rapport à la spore précédemment *dé*différenciée dès le déclic inducteur de sa croissance sphérique, le plus probablement l'imbibition aqueuse initiale (GOTTLIEB, 1978). Cette redifférenciation comprend l'apparition de «taches» cytosoliques réagissant acide aux indicateurs de pH, colorants ou fluorescents (TURIAN, 1983), et correspondant à des zones apicales pratiquement dépourvues de ribosomes et rapidement envahies de vésicules (Pl. I-2,3). Elles sont qualifiées de restrictives ou d'exclusion pour les mitochondries, lesquelles, dès l'émergence des tubes germinatifs, régressent à une position subapicale; elles s'y alignent dans l'axe du tube puis de l'hyphe végétatif par des microtubules avec lesquels elles sont parfois en contact intime (NAJIM & TURIAN, 1979; HEATH & HEATH, 1978). Le système endomembranaire de Golgi chez les Oomycètes (GROVE, 1978), mais essentiellement réticulaire endoplasmique chez les autres Fungi (GOODAY, 1983) est générateur de vésicules de types divers : vésicules dites de paroi («wall vesicles»), microvésicules agrégées en «Spitzenkörper» chez les Septomycètes (Pl. I-3), vésicules enveloppées («coated


3
V
VP
1
2
N

vesicles») entourées d'un triskelion (CAESAR-TON THAT & al., 1987). Le problème de la migration apicale et de l'exocytose des vésicules de paroi n'est pas résolu. Proposition a été faite (BARTNICKI-GARCIA, 1973) d'une migration self-électrophorétique en direction du pôle apical positif. Cette proposition rejoindrait celle concernant l'entrée des boucles de courant électrique positif découvertes au site de germination des zygotes d'algues fucoïdes (JAFFE, 1979; NUCCITELLI, 1982). Ces derniers résultats ont été confirmés chez les champignons par la détection d'une acidité différencielle dans l'apex d'hyphes divers à l'aide d'indicateurs de pH tels que le vert de bromocrésol (TURIAN, 1978, 1979; Mc GILLVIRAY & GOW, 1987) et de sondes fluorescentes, 5-méthyl esculétine (TURIAN, 1981) ou orange d'acridine (TURIAN, 1983; TURIAN & al., 1985a-b).

Les mesures de l'école de Franklin Harold (KROPF & al., 1983, GOW & al., 1984) à l'aide d'une électrode vibrante ont confirmé l'entrée de courant positif dans les apex des hyphes fongiques. Le problème majeur reste cependant de savoir ce qui contribue à la séparation des pompes expulsant des protons — H^+-ATPase membranaire à localisation subapicale — des canaux perméants («leaks» ou «channels») admettant l'entrée de protons acidifiants au niveau de la membrane plasmique apicale. Ayant récemment observé cytochimiquement, par réaction à la diamino-benzidine (DAB), une déficience oxydative

---

Planche I — Electro-micrographies de stades d'émergence et d'élongation de macroconidies : 1. Site d'émergence présumé (flèche épaisse) du tube germinatif d'une conidie de *Neurospora crassa* élu par le positionnement de mitochondries sous le plasmalemme; matière électro-dense (flèche mince) intermédiaire entre les membranes mitochondrienne et plasmique (Échelle : 1 μm; fixation-coupe, cf. TURIAN & GEISSLER, 1984). 2. Tube en émergence de macroconidie de *N. crassa* montrant la zone apicale d'exclusion des ribosomes (flèche noire) correspondant à la zone d'acidité maxima détectée par le virage à l'orange-rougeâtre de la fluorescence verte de l'orange d'acridine (flèche blanche) (Échelle noire : 1 μm; échelle blanche : 5 μm; fixation-coupe, cf. TURIAN & al., 1985a). 3. Apex hyphal de *Monilia fructigena* en élongation avec ses deux types principaux de vésicules : vésicules de paroi (vp) et microvésicules (v) agrégées en «Spitzenkörper» (Échelle : 3 μm). Encart : hyphes colorées au bleu de méthylène réduit (tache blanche) au niveau du «Spitzenkörper» (Échelle : 10μm; M.E. inédit avec Dr. L. NAJIM, M. O. selon TURIAN, 1978).

Plate I — Electron micrographs of germinating conidia at their outgrowth and elongation stages : 1. Presumed outgrowth site (thick arrow) of the conidial germ tube in *Neurospora crassa*, elected by the positioning of mitochondria below the plasmalemma, electron dense patch (thin arrow) between the mitochondrial and plasmalemmic membranes (Bars : 1 μm; fixation-sectioning, see TURIAN & GEISSLER, 1984). 2. Outgrowth tube from a macroconidium of *N. crassa* showing the apical zone of ribosomal exclusion (black arrow) corresponding to the zone of maximal acidity detected by the switch to reddish orange of the green fluorescence of acridine orange (white arrow) (Black bar : 1 μm, white bar : 5 μm; fixation-sectioning, see TURIAN & al., 1985a). 3. Elongating hyphal apex of *Monilia fructigena* showing its two major types of vesicles : wall vesicles (vp) and microvesicles (v) aggregated into «Spitzenkörper» (Bar : 3 μm). Insert : hyphae stained with methylene blue reduced (white spot) at the level of the «Spitzenkörper» (Bar : 10 μm; E.M. unpublished with Dr. L. NAJIM, O.M. according to TURIAN, 1978).

(cytochrome oxydase) au niveau des mitochondries frontales de tubes germinatifs de conidies de *N. crassa*, nous avons suggéré une possibilité de carence de livraison d'ATP aux pompes dans cette zone fronto-apicale (TURIAN & al., 1988). La déficience oxydative des mitochondries pourrait elle-même être relative à leur découplage présumé lors de leur contact électif avec la membrane plasmique. La matière électro-dense interposée entre les crêtes des mitochondries et la membrane plasmique (Pl. 1-1) pourrait refléter la présence de composés lipidiques découplants à ce niveau.

La contribution des vésicules au rapide allongement hyphal est sans doute celle d'enzymes hydrolytiques (glucanases, chitinase, cellulase) et synthétisants (glucanes-, cellulose-, chitine-synthétases). A ce niveau apical, les travaux du groupe de Michel FÈVRE (Univ. Lyon) tendent en outre à démontrer l'absence de polymères élaborés dans les vésicules, les polysaccharides étant assemblés à l'interface plasmalemme-paroi en formation continue.

Le plus généralement, les conidies et autres spores fongiques non cloisonnées n'émettent qu'*un* tube germinatif – germination monopolaire – à l'instar de la conidie de *N. crassa*. Cependant, des conidies telles que celles de *Monilia - Sclerotinia*, en particulier de *Monilia fructigena*, émettent en majorité et successivement deux tubes germinatifs en figure *bi*polaire le plus souvent selon leur axe conidiogénique (TURIAN, 1985). Une telle contingence démontre un contrôle génétique des sites d'émission du ou des tube(s) germinatif(s). Cette constatation est renforcée, d'une part, par l'obtention récente de mutants morphologiques déviant de la *mono* à la *pluri*polarité de germination (mutant «amycelial» de *N. crassa*, TURIAN & CAESAR, 1987) et d'autre part, par le retour à la monopolarité d'un mutant résistant à l'agent anti-microtubule benomyl (ROSSIER & TURIAN, 1987) connu pour son effet phénotypique de germination multipolaire chez diverses moisissures (RICHMOND, 1975; TURIAN & al., 1985b).

Ces considérations nous ramènent à notre hypothèse de départ, à savoir le rôle directeur des mitochondries dans le déterminisme de la polarité de germination et d'allongement des hyphes. Des mesures récentes d'intensité de fluorescence du colorant-laser Rhodamine 123 dans les mitochondries, reflet de leur niveau de potentiel de membrane, a révélé une forte intensité dans les mitochondries frontales des «monotubes» émergeant de conidies du type sauvage de *N. crassa*, avec un maximum dans les mitochondries frontales (TURIAN & CAESAR, 1987; CAESAR-TON THAT & al., 1988) interprété comme résultant de leur efflux protonique par activation de la mit-ATPase. Ces activités sont toutes fortement affaiblies dans les mitochondries de «polytubes» émis soit par des conidies du mutant «amycelial» (TURIAN & CAESAR, 1987) soit par des conidies germées en présence de benomyl (CAESAR-TON THAT & al., 1988). Notre interprétation de ces interrelations, à la lumière des données actuelles, est que l'intensité d'activité génératrice d'ATP et donc d'un fort courant protonique des mitochondries positionnées par des microtubules intacts détermine la dominance apicale d'un seul tube s'il n'y a qu'un lot de mitochondries (*N. crassa*) ou de 2 tubes émergeant aux antipodes sporaux, s'il y en a 2 séparés par une vacuole centrale (*M. fructigena*, cf. TURIAN, 1985).

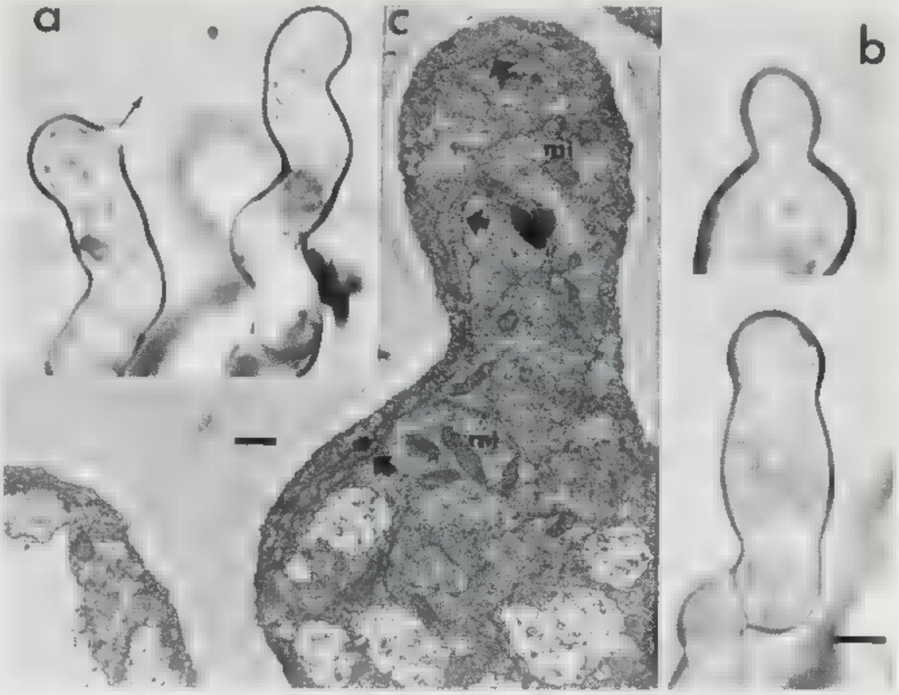


Figure 2 – Hyphes vésiculeux d'un mutant colonial (col-3) de *N. crassa* prélevés sur la marge d'une colonie dense de 10 j à 25°C sur milieu synthétique agarisé. Au centre (c), ultrastructure sur coupe mince (avec N. OULEVEY, fixation OsO_4-glutaraldéhyde) révélatrice d'une pauvreté relative en petites mitochondries contrastant avec un hyper-développement du système endomembranaire (flèches) (Échelle : 1 μm). L'absence de zone d'exclusion acide à l'apex des hyphes est corroborée par : a. La coloration rouge grenat (= grise en noir-blanc) uniforme avec l'indicateur de pH jaune d'alizarine S (10^{-4} aqueux); ce dernier n'est jaune et donc acide qu'au seul site d'émergence d'une ramification (flèche); les granules foncés (violet) seraient ceux des mitochondries (relativement plus alcalines que le cytosol). b. La coloration uniformément verdâtre (grise en noir-blanc) du vert de bromocrésol (10^{-4} aqueux), sans virage apical au jaune révélateur d'une acidification locale (TURIAN, 1983) (Échelle : 5 μm).

Figure 2 – Vesicular hyphae of a colonial mutant (col-3) of *N. crassa* taken from the margin of a dense colony grown for 10 days at 25°C on the agarized synthetic medium. Center (c), ultrastructure from a thin section (with N. OULEVEY, OsO_4-glutaraldehyde fixation) revealing only a few small mitochondria contrasting with the hyper-developed endomembrane system (arrows) (Bar : 1 μm). The absence of an acidic exclusion zone at the tip of the hyphae is corroborated by : a. The generalized pink red (= grey in the black-white photograph) staining with the pH indicator alizarin yellow S (10^{-4} in water); this stain is yellow (acid pH) only at the outgrowth site of a branching (arrow); the dark granules (violet) could correspond to mitochondria (relatively more alkaline than the cytosol). b. The uniformly greenish staining (grey here) of the bromocresol green (10^{-4} in water), without apical turning to acidic yellow (TURIAN, 1983) (Bar : 5 μm).

La dominance apicale exercée dans les hyphes en croissance élongative a été considérée par LARPENT (1962) comme résultant d'un drainage sélectif de nutriments vers les apex. Cet effet de «sink» est sans doute important pour fournir des précurseurs à l'énergétique mitochondrienne régénératrice de l'indispensable ATP protogène. Celle-ci assure, parallèlement à l'effet proglycolytique du glucose (TURIAN, 1972) le maintien d'une croissance élongative de l'hyphe cylindrique c'est-à-dire à forte polarité axiale. Lorsque l'énergétique est déficiente comme dans le cas du mutant «amycelial», c'est une croissance vésiculaire des hyphes pseudo-levuriformes qui se substitue à la croissance normale. Cette déviation morphogène est reflétée par un positionnement défectueux des mitochondries hypodéveloppées et, parallèlement, la perte du gradient acido apical (TURIAN, 1976); cette uniformisation se manifeste par la disparition du virage au jaune des réactifs de pH (vert de bromocrésol, sulfo-alizarine, etc.) dans l'apex des courts hyphes vésiculeux et contournés de divers mutants coloniaux dont col-3 (Fig. 2).

Dans la course élongative des hyphes, l'état physico-chimique apical paraît aussi jouer un rôle moteur important. LANGERON avait déjà déclaré, en 1945, que l'hyphe fongique pouvait être considéré comme «une amibe canalisée par les parois rigides dans un long tube». Nous-mêmes avons considéré le cytoplasme apical comme un pseudopode de cette amibe, et comme tel, y avons distingué un ectoplasme bordant un endoplasme plus fluide, siège des courants basifuges et acropètes (TURIAN, 1978). Mc KERRACHER & HEATH (1987) ont repris ces idées en les plaçant sur le plan macromoléculaire des protéines contractiles telle l'actine. Celle-ci capuchonne l'apex et a été isolée de *Neurospora crassa* (SIKORA & MARZLUF, 1982). Cette protéine contractile avait déjà été soupçonnée comme étant responsable de la gélification de l'apex ultime où elle serait présente comme actine polymérisée ou F-actine par déplacement acide de l'équilibre thixotropique (sol ⇋ gel), par rapport à la zone sous-apicale endoplasmique relativement alcaline (TURIAN, 1979). L'actine a été repérée cytochimiquement dans les tubes germinatifs d'urédospores (HOCH & STAPLES, 1983) par la même méthode à la phalloïdine (phalacrine) - Rhodamine utilisée pour sa détection dans les bourgeons de la levure *Saccharomyces cerevisiae* (KILMARTIN & ADAMS, 1984; ADAMS & PRINGLE, 1984) ainsi que dans les tubes germinatifs de conidies de *N. crassa* par les méthodes d'extraction au glycérol et de formation d'«arrow-heads» de méromyosine (TURIAN & al., 1985b).

En outre, pour assurer la motricité du cytoplasme apical, il est prévisible d'associer l'actine à son partenaire contractile habituel, la myosine, présente tant dans les systèmes musculaires que non musculaires (FULTON, 1984). Une première tentative dans cette direction a révélé une activité Ca^{2+} - ATPasique et myosine-kinase dans des extraits d'hyphes en croissance de *N. crassa* (VAN TUINEN & al., 1986) et, tout récemment, une bande protéique repérée au même Rf qu'un témoin de myosine animale de 105 kdaltons en coélectrophorèse SDS-PAGE d'extraits similaires (HOANG-VAN & TURIAN, 1987).

Il est en outre à prévoir que ces systèmes endogènes répondent à des signalisations externes par le canal de récepteurs membranaires périphériques encore à découvrir chez les champignons. On y suspecte actuellement la présence chez ces derniers du système inositide-triphosphate et de ses médiateurs de transduction interne pour contrôler les teneurs en calcium cytosoluble par l'intermédiaire de la protéine kinase C récemment identifiée dans des extraits d'hyphes de *N. crassa* (FAVRE & TURIAN, 1987). Dans ce contexte, il faut relever le rôle du calcium, complexé avec la protéine calmoduline dans le maintien de l'élongation cylindrique normale des hyphes (ORTEGA PEREZ & TURIAN, 1987).

La structure polarisée (monopolarité apicale) de l'hyphe végétatif en croissance élongative se maintiendra jusqu'à son écroulement ou dissipation lors de la transition fondamentale apex à différenciation végétative → apex à différenciation sporogène, suite à une induction par facteurs externes (inanition, lux, etc.) sur une base de compétence génétique comme le prouve l'existence de nombreux mutants stériles (aconidiens, etc.). Cette transition, un modèle de différenciation cellulaire (COLE, 1986), a pu être anticipée (développement microcyclique) chez diverses moisissures (*Aspergillus niger, Neurospora crassa, Trichoderma viride, Penicillium urticae*, etc.) par action de chocs thermiques et/ou de stress nutritionnel (carence en azote, GUIGNARD & al., 1984).

BIBLIOGRAPHIE

ADAMS A.E.M. and PRINGLE J.R., 1984 – Relationship of actin and tubulin distribution to bud growth in wild-type and morphogenetic-mutant *Saccharomyces cerevisiae. J. Cell Biol.* 98 : 934-945.

BARTNICKI-GARCIA S., 1973 – Fundamental aspects of hyphal morphogenesis. *Symp. Soc. Gen. Microbiol.* 23 : 245-267.

CAESAR-TON THAT T.C., HOANG-VAN K., TURIAN G. and HOCH H.C., 1987 – Isolation and characterization of coated vesicles from filamentous fungi. *Eur. J. Cell Biol.* 43 : 189-194.

CAESAR-TON THAT T.C., ROSSIER C., BARJA F., TURIAN G. and ROOS U.-P., 1988 – Induction of multiple germ tubes in *Neurospora crassa* by antitubulin agents. *Eur. J. Cell Biol.* 46 : 68-79.

COLE G.T., 1986 – Models of cell differentiation in conidial fungi. *Microbiol. Rev.* 50 : 94-132.

FAVRE B. and TURIAN G., 1987 – Identification of a calcium- and phospholipid-dependent protein kinase (protein kinase c) in *Neurospora crassa. Pl. Sci.* 49 : 15-21.

FULTON A.B., 1984 – *The Cytoskeleton. Cellular architecture and choreography.* New York, London, Chapman & Hall, 80 p.

GOODAY G.W., 1983 – The hyphal tip. *In* : SMITH J.E., *Fungal Differentiation. A contemporary synthesis.* New York & Basel, Marcel Dekker Inc. : 315-356.

GOTTLIEB D., 1978 — COOK J.G., *The germination of fungus spores.* Durham, England, Meadowfield Press, 166 p.

GOW N.A.R., KROPF D.L. and HAROLD F.M., 1984 — Proton currents and pH gradients along growing hyphae of the water mould *Achlya bisexualis. J. Gen. Microbiol.* 130 : 2967-2974.

GROVE S.N., 1978 — The cytology of hyphal tip growth. *In* : SMITH J.E. & BERRY D.R., *The Filamentous Fungi.* London, Edward Arnold, vol. III : 28-50.

GUIGNARD R., GRANGE F. and TURIAN G., 1984 — Microcycle conidiation induced by partial nitrogen deprivation in *Neurospora crassa. Canad. J. Microbiol.* 30 : 1210-1215.

HAWKER L.E., 1966 — Germination : morphological and anatomical changes. *In* : MADELIN M.F., *The Fungus spore.* London, Butterworths : 151-162.

HEATH I.B. and HEATH M.C., 1978 — Microtubules and organelle movements in the rust fungus *Uromyces phaseoli* var. *vignae. Cytobiologie* 16 : 393-411.

HOANG-VAN K. and TURIAN G., 1987 — Myosin-like and other proteins associated with clathrin-coated vesicles in growing hyphae of *Neurospora crassa. Arch. Sci. Genève* 40 : 379-382.

HOCH H.C. and STAPLES R.C., 1983 — Visualization of actin in situ by rhodamine-conjugated phalloidin in the fungus *Uromyces phaseoli. Eur. J. Cell Biol.* 32 : 52-58.

JAFFE L.F., 1979 — Control of development by ionic currents. *In* : CONE R.A. & DOWLING J.E., *Membranes Transduction Mechanisms.* New York, Raven Press : 199-231.

KATZ D. and ROSENBERGER R.F., 1971 — Hyphal wall synthesis in *Aspergillus nidulans* : effect of protein synthesis inhibition and osmotic shock on chitin insertion and morphogenesis. *J. Bacteriol.* 108 : 184-190.

KILMARTIN J.V. and ADAMS A.E.M., 1984 — Structural rearrangements of tubulin and actin during the cell cycle of the yeast *Saccharomyces. J. Cell Biol.* 98 : 922-933.

KROPF D.L., LUPA M.D.A., CALDWELL J.H. and HAROLD F.M., 1983 — Cell polarity : endogenous ion currents precede and predict branching in the water mold *Achlya. Science* 220 : 1385-1387.

LANGERON M., 1945 — *Précis de Mycologie.* Paris, Masson et Cie, 674 p.

LARPENT J.P., 1962 — La notion de dominance apicale chez *Rhizoctonia solani* Kuhn. *Compt. Rend. Hebd. Séances Acad. Sci.*, Sér. III, , 264 : 1137-1139.

MARCHANT R., 1979 — Wall growth during spore differentiation and germination. *In* : BURNETT J.H. & TRINCI A.P.J., *Fungal walls and hyphal growth.* Cambridge, Cambridge University Press : 115-148.

Mc GILLVIRAY A.M. and GOW N.A.R., 1987 — The transhyphal electrical current of *Neurospora crassa* is carried principally by protons. *J. Gen. Microbiol.* 133 : 2875-2881.

Mc KERRACHER L.J. and HEATH I.B., 1987 — Cytoplasmic migration and intracellular organelle movements during tip growth of fungal hyphae. *Exp. Mycol.* 11 : 79-100.

MICHEA-HAMZEHPOUR M. and TURIAN G., 1984 — Temperature-controlled alternative respiration and outgrowth rate from conidia of *Neurospora crassa. Experientia* 40 : 1441-1443.

NAJIM L. et TURIAN G., 1979 — Ultrastructure de l'hyphe végétatif de *Sclerotinia fructigena. Canad. J. Bot.* 57 : 1299-1313.

NUCCITELLI R., 1982 — Transcellular ion currents : Signals and effectors of cell polarity. *Modern Cell Biol.* 2 : 451-481.

ORTEGA PEREZ R. and TURIAN G., 1987 — Cytomorphological defects produced by

anti-calmodulin agents in outgrowing germ tubes and elongating hyphae of *Neurospora crassa*. *Cytobios* 49 : 137-145.

PALL M.L., 1977 — Cyclic AMP and the plasma membrane potential in *Neurospora crassa*. *J. Biol. Chem.* 252 : 7146-7150.

RICHMOND D.V., 1975 — Effects of toxicants on the morphology and fine structure of fungi. *Advances Appl. Microbiol.* 19 : 289-319.

ROSSIER C. and TURIAN G., 1987 — Action of the antimicrotubular drug benomyl on *Neurospora crassa* developmental polarity. *Experientia* 43 : 692.

SANDERS D. and SLAYMAN C.L., 1982 — Control of intracellular pH. Predominant role of oxidative metabolism, not proton transport, in the eukaryotic microorganism *Neurospora*. *J. Gen. Physiol.* 80 : 377-402.

SIKORA L. and MARZLUF G.A., 1982 — Identification and isolation of actin from *Neurospora crassa*. *J. Gen. Microbiol.* 128 : 439-445.

TURIAN G., 1972 — Maintien de l'élongation végétative par répression catabolique dans l'apex hyphal de *Neurospora crassa*. *Compt. Rend. Hebd. Séances Acad. Sci.*, Sér. III, 275 : 1371-1374.

TURIAN G., 1976 — Reducing power of hyphal tips and vegetative apical dominance in fungi. *Experientia* 32 : 989-991.

TURIAN G., 1978 — The «Spitzenkörper», centre of the reducing power in the growing hyphal apices of two septomycetous fungi. *Experientia* 34 : 1277-1279.

TURIAN G., 1979 — Cytochemical gradients and mitochondrial exclusion in the apices of vegetative hyphae. *Experientia* 35 : 1164-1166.

TURIAN G., 1981 — Low pH in fungal bud initials. *Experientia* 37 : 1278-1279.

TURIAN G., 1983 — Polarized acidification at germ tube outgrowth from fungal spores (*Morchella* ascospores, *Neurospora* conidia). *Bot. Helvetica* 93 : 27-32.

TURIAN G., and MICHEA-HAMZEHPOUR M., 1983 — Parallel stimulation of mitochondrial H^+ (Mg^{2+})-ATPase and rate of germ tube outgrowth from conidia of *Neurospora crassa*. *FEMS Microbiol. Lett.* 20 : 249-252.

TURIAN G. and GEISSLER C.-L., 1984 — Further clues for the involvement of mitochondria in the initiation of germ tube outgrowth from fungal conidia (*Neurospora* model). *Bot. Helvetica* 94 : 407-410.

TURIAN G., 1985 — Polarizing processes for germ tube outgrowth from monilioid fungal spores (*Neurospora* conidial model). *Proc. Indian Acad. Sci. (Pl. Sci.)* 94 : 165-173.

TURIAN G., GEISSLER C.-L. and TON-THAT T.C., 1985a — Ribosomal exclusion from the most acidic tip zone of fungal hyphae. *Microbios* 30 : 19-22.

TURIAN G., TON-THAT T.C. and ORTEGA PEREZ R., 1985b — Acid tip linear growth in Fungi : requirements for H^+/Ca^{2+} inverse gradients and cytoskeleton integrity. *Bot. Helvetica* 95 : 311-322.

TURIAN G. and CAESAR T.C., 1987 — Multipolar germination of conditionally-produced conidia in an «amycelial» mutant of *Neurospora crassa*. *J. Gen. Appl. Microbiol.* 33 : 543-545.

TURIAN G., CAESAR T.C. and GEISSLER C.-L., 1988 — Polarity effectors of germ tube outgrowth in conidia of *Neurospora crassa*. *Bot. Helvetica* 98 : 133-145.

VAN TUINEN D., ORTEGA PEREZ R. and TURIAN G., 1986 — A search for myosin in elongating hyphae of *Neurospora crassa*. *Bot. Helvetica* 96 : 299-302.